

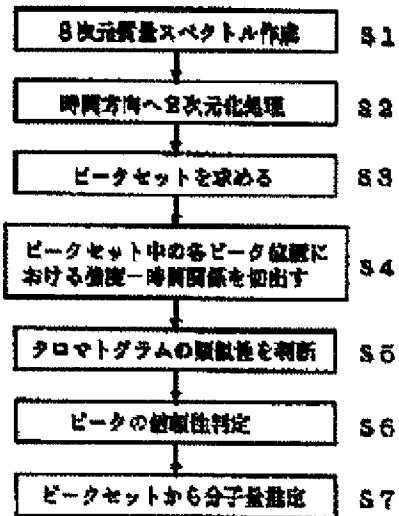
## LIQUID CHROMATOGRAPH MASS SPECTROSCOPE

**Publication number:** JP8334493  
**Publication date:** 1996-12-17  
**Inventor:** FUJIMOTO MINORU  
**Applicant:** SHIMADZU CORP  
**Classification:**  
 - International: G01N27/62; G01N30/72; G01N27/62; G01N30/00;  
 (IPC1-7): G01N27/62; G01N30/72  
 - European:  
**Application number:** JP19950166799 19950607  
**Priority number(s):** JP19950166799 19950607

[Report a data error here](#)

### Abstract of JP8334493

**PURPOSE:** To estimate molecular weights with good sensitivity and to precisely fix molecules by providing means for addition, estimation, judgment, and processing, and judging the similarity between fluctuations in intensity in the time direction of a three-dimensional mass spectrum. **CONSTITUTION:** An addition means is used to set predetermined time widths in front of and behind a holding time during which a desired material appears, and three-dimensional mass spectra within the time widths are added together in time direction to produce a two-dimensional mass spectrum (S2). Next, an estimation means is used to extract (S3), from a number of intensity peaks in the two-dimensional mass spectrum, such a set of intensity peaks (peak set) as may be produced by polyvalent ions derived from a certain material. Then, using a judgment means and in consideration of the mass numbers of a plurality of intensity peaks, chromatograms of the time-relative intensity at each of the mass numbers are cut out (S4) from the three-dimensional mass spectra, and are compared (S5) to judge the similarity. Further, a processing means is used for estimating molecular weights from the peak set based on the result of judgment on the similarity and for fixing molecules (S7).



Data supplied from the [esp@cenet](mailto:esp@cenet) database - Worldwide

(19)日本国特許庁 (JP)

(12) 公開特許公報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開平8-334493

(43)公開日 平成8年(1996)12月17日

(51)Int.Cl.  
G 0 1 N 27/62  
30/72

識別記号 廣内整理番号

F I  
G 0 1 N 27/62  
30/72

技術表示箇所  
X  
C

審査請求 未請求 請求項の数1 FD (全6頁)

(21)出願番号 特願平7-166799

(22)出願日 平成7年(1995)6月7日

(71)出願人 000001993

株式会社島津製作所  
京都府京都市中京区西ノ京桑原町1番地

(72)発明者 藤本 穣

京都市中京区西ノ京桑原町1番地 株式会  
社島津製作所三条工場内

(74)代理人 弁理士 小林 良平

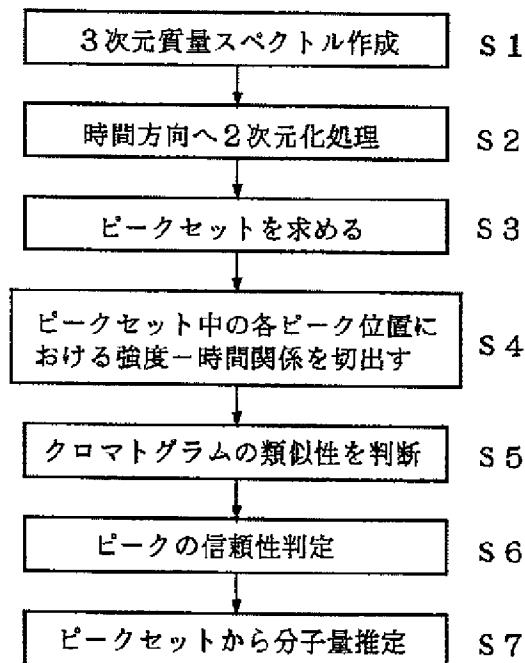
(54)【発明の名称】 液体クロマトグラフ質量分析装置

(57)【要約】

【目的】 LC/MS分析装置における分子量推定の精度を高める。

【構成】 3次元質量スペクトルを時間方向に積算して2次元化処理した後、ピークセットを求める。更に、3次元質量スペクトルから、該ピークセット中の各ピークの位置における相対強度-時間の関係を切り出し、その類似性を判断しすることにより各ピーク位置の信頼性を判定し、その結果に基づき分子量を推定する。

【効果】 LCで分離されない物質の影響が排除される。



## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 試料に含まれる複数の物質を液体クロマトグラフによって分離したあと質量分析計によって分析する液体クロマトグラフ質量分析装置であって、3次元多価イオン解析により該物質の同定や分子量推定を行なう分析装置において、

a)質量分析結果である3次元質量スペクトルにおいて、目的とする物質が現われる保持時間の近傍で該3次元質量スペクトルを時間方向に積算することにより2次元質量スペクトルを求める積算手段と、

b)前記2次元質量スペクトルにおいて、前記目的とする物質により発生したと推定される複数の強度ピークを求める推定手段と、

c)前記複数の強度ピークのそれぞれについて該強度ピークの生じている質量数に着目し、前記3次元質量スペクトルの時間方向における強度の変動の類似性を判断する判断手段と、

d)前記判断手段の結果に基づき前記複数の強度ピークから前記目的とする物質の同定又は分子量推定を行なう処理手段と、を備えることを特徴とする液体クロマトグラフ質量分析装置。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

【産業上の利用分野】 本発明は液体クロマトグラフ(LC)によって試料中の物質を分離した後、質量分析法(MS)を用いて分離された物質の分析を行なう液体クロマトグラフ質量分析装置に関し、特に、該分析装置における3次元多価イオン解析の改良に関する。

## 【0002】

【従来の技術】 液体クロマトグラフ質量分析装置は、カラム中に液体試料を通すことにより液体試料に含まれている物質を時間軸上で分離する液体クロマトグラフ(LC: Liquid Chromatography)と、分離された物質をイオン化して該イオンの質量数(質量/荷電比: m/z)に応じて分離し、その生成数に従って質量スペクトルを作成する質量分析計(MS: Mass Spectrometer)とから構成される。図1はLC-MS分析装置の基本構成を示すブロック構成図である。LC部10は溶離液槽11、ポンプ12、試料注入部13、カラム14から構成され、MS部20は揮散部21、イオン化部22、質量分離部23、検出器24、増幅器25、データ処理部26、記録部27から構成される。

【0003】 試料注入部13へは、ポンプ12にて溶離液槽11から吸引された溶離液が供給される。試料注入部13へ注入された液体試料は、この溶離液の流れによってカラム14内へ導かれる。微細粒子の分離基材が充填されたカラム14内を試料を含む溶離液が通過するに従い試料中の各物質は分離され、各物質に特有の保持時間だけカラム14中に留まつた後カラム14から排出される。LC部10にて分離された各物質は、揮散部21

にて気相状態に揮散され、イオン化部22へ蒸気の状態で導入される。イオン化部22では、例えば電子衝撃により、導入された物質のイオンが生成される。このイオンの荷電は、分子から飛び出す電子の個数によって決まる。すなわち、分子からn個の電子が飛び出したものがn価の(n重荷電)イオンであり、このnを価数といふ。

【0004】 質量分離部23では、イオン化部22で生成されたイオンが質量数に応じて分離される。このイオン分離の方法としては、高周波四重極電場を用いた収束による方法、磁場の強さによって質量数が相違するイオンを分離する方法など種々の方法が用いられる。検出器24では、質量数毎に分離されたイオンの生成数が検出される。この検出信号は増幅器25で増幅された後、データ処理部26へ入力される。データ処理部26では、イオンの生成数すなわち相対強度と質量数との関係を示す質量スペクトルが作成される。この質量スペクトルは、LC部10からMS部20へ供給される試料に対して所定時間間隔毎に測定されるため、最終的な質量スペクトルは、時間軸、質量数、及び相対強度の3次元的なものとなる。そして、この3次元質量スペクトルに基づいて試料中の分子の分子量の推定や分子の同定が行なわれ、その結果が記録部27により記録される。

【0005】 多価イオン解析においては、特に、イオン化部22にて、一つの分子から価数が相違する複数の多価イオンが生成され、この多価イオンによって質量スペクトル上に現われる複数の強度ピークを解析することにより分子量の推定等が行なわれる。

【0006】 以上のように液体クロマトグラフ質量分析では3次元質量スペクトルが得られるが、実際には質量分析による質量スペクトルのS/N比はあまり良好ではない。このため、データ処理部26においては、LC部10にて分離された一つの物質がMS部20に導入されている時間の範囲内で、3次元質量スペクトルを時間方向に積算して2次元化することが一般に行なわれる。これにより、所望の強度ピークが急峻になり、ピーク位置の判別が容易となる。

## 【0007】

【発明が解決しようとする課題】 試料に含まれる各物質が液体クロマトグラフにより時間方向に完全に分離されている場合には、上記の如き2次元化処理を実行すればS/N比が良い2次元質量スペクトルが得られるため、分子量の推定や物質の同定を精度良く行なうことができる。ところが、液体クロマトグラフで完全に分離できなかつた物質に対して上記のような2次元化処理を実行すると、二つ以上の物質の質量スペクトルが重なってしまい正確なピーク位置の検出が困難になる。

【0008】 このことを具体的な例を挙げて以下に説明する。分子量Xの物質の質量スペクトルにおいて、強度ピークが現われる質量数pは次の(1)式で表わされる。

$$p_i = (X+i) / i \quad \cdots (1)$$

ここで、 $i$  はイオンの価数である。すなわち、イオンの価数が相違すれば荷電が相違するため、質量数（質量／荷電比）も相違する。従って、多価イオン解析では、一つの分子から、ピーク位置が相違する複数の強度ピーク（以下「ピークセット」という）が得られる。このピークセットの位置から分子量が推定される。

【0009】いま、それぞれ単独で測定した場合に、次のような結果が得られる二つの物質があると仮定する。

〔物質A〕

- ・LCによる分離結果：時刻T1を中心とする時間幅のピークを有する
- ・分子量：6700
- ・測定される価数：5～9
- ・強度ピークが発生する質量数：1341、1117.67、958.1

4. 838.5、745.44

〔物質B〕

- ・LCによる分離結果：時刻T2を中心とする時間幅のピークを有する
- ・分子量：1117
- ・測定される価数：1～2
- ・強度ピークが発生する質量数：1118、559.5

【0010】試料が物質Aと物質Bとの混合したものであり、時刻T1=10、時刻T2=15.5であるときの液体クロマトグラフ分離結果すなわちクロマトグラムを図4に示す。また、このときの3次元質量スペクトルを、質量数1113.333～1120、時間0～29の範囲について図5に示す。更に、図5の3次元質量スペクトルを時間0～20の範囲で時間方向に積算して2次元化した2次元質量スペクトルを図6に示す。図4に示すように、二つの物質A及びBが完全には分離されていない場合には、物質Aの6価の強度ピークの位置と物質Bの1価の強度ピークの位置とは時間-質量数の平面上で極めて近くに現われる（図4参照）。このため、この3次元質量スペクトルを時間方向に積算すると、図6の如く二つのピークは融合して一つのピークとして認識される。このとき、ピークの発生する質量数は1117.8となり、この値は物質Aの6価の質量数とは相違するにも拘らず、この誤った値をピークセットの一つとして分子量を推定するため、結果として推定分子量に誤差を生じさせることになる。

【0011】また、質量スペクトル中の多価イオンによるピークセットに基づいて元の物質を同定する場合、上記のようなピーク位置のずれにより、偶然他の物質のピークセットの一つであると誤認される位置、すなわち他の分子の多価イオンによる位置に一致してしまうと、誤った分子として同定されてしまうことさえ有り得る。

【0012】本発明はこのような課題を解決するために成されたものであり、その目的とするところは、液体クロマトグラフによる複数物質の分離が悪い場合であっても、分子量の推定を精度良く行なうとともに、分子の同

定を正確に行なえる液体クロマトグラフ質量分析装置を提供することにある。

【0013】

【課題を解決するための手段】上記課題を解決するために成された本発明は、試料に含まれる複数の物質を液体クロマトグラフによって分離したあと質量分析計によって分析する液体クロマトグラフ質量分析装置であって、3次元多価イオン解析により該物質の同定や分子量推定を行なう分析装置において、

10 a)質量分析結果である3次元質量スペクトルにおいて、目的とする物質が現われる保持時間の近傍で該3次元質量スペクトルを時間方向に積算することにより2次元質量スペクトルを求める積算手段と、  
 b)前記2次元質量スペクトルにおいて、前記目的とする物質により発生したと推定される複数の強度ピークを求める推定手段と、  
 c)前記複数の強度ピークのそれぞれについて該強度ピークの生じている質量数に着目し、前記3次元質量スペクトルの時間方向における強度の変動の類似性を判断する判断手段と、  
 20 d)前記判断手段の結果に基づき前記複数の強度ピークから前記目的とする物質の同定又は分子量推定を行なう処理手段と、  
 を備えることを特徴としている。

【0014】

【作用】本発明に係る液体クロマトグラフ質量分析装置における3次元多価イオン解析では、まず、試料の分析結果として3次元質量スペクトルを得たあと、積算手段で、目的とする物質が現われる保持時間の前後に所定の時間幅が設定され、該時間幅内の3次元質量スペクトルを時間方向に積算することにより2次元質量スペクトルが作成される。次いで、推定手段では、この2次元質量スペクトル中の多数の強度ピークから、或る一つの物質による多価イオンによって生じ得るような強度ピークの組（ピークセット）が抽出される。

30 【0015】続いて、このピークセットを構成する複数の強度ピークの位置の信頼性を調べるため、判断手段では、その複数の強度ピークの質量数に着目し、3次元質量スペクトルからそれぞれの質量数における時間-相対強度のクロマトグラムを切り出して、これらを比較し類似性を判断する。すなわち、これにより、ピークセットの中で、目的とする物質のみによる強度ピークと、他の物質の影響を受けた強度ピークとが鑒別される。更に、処理手段では、類似性の判断結果に基づきピークセットから分子量の推定や分子の同定がなされる。このとき、クロマトグラムの類似性が乏しいためピーク位置の信頼性が低いと判断されるものをピークセットから除外するようにして良いし、また、クロマトグラムの類似性に応じて各強度ピークの信頼度に重み付けを持たせるよう50 にした上で分子量を算出するようにしても良い。

## 【発明の効果】

【0016】この結果、本発明によれば、液体クロマトグラフでの各物質の分離が充分でない場合でも、質量スペクトルにおけるピークセットの信頼性が向上するため、分子量を精度良く求めることができるとともに、物質の同定も正確に行なえる。

## 【0017】

【実施例】以下、本発明の実施例を図を参照しつつ説明する。図2は本発明に係る分析装置における3次元多価イオン解析の処理手順を示すフローチャート、図3はピーク位置の信頼性の判断方法を説明するための図である。

【0018】本発明に係る液体クロマトグラフ質量分析装置では、多価イオン解析のデータ処理を実行するためのデータ処理部26の動作が従来のものと大きく相違する。図2のフローチャートに沿って、前述の如く物質Aと物質Bとが完全には分離されない場合における本発明による3次元多価イオン解析の処理を順次説明する。

【0019】まず、従来の3次元多価イオン解析と同様に、3次元質量スペクトルが作成される(ステップS1)。このときの質量スペクトルは図5のようになる。次に、この3次元質量数スペクトルから、目的とする物質が現われる時間付近の2次元質量数スペクトルを求める(ステップS2)。すなわち、目的とする物質が物質Aであるとき、時間t=3からt=20までの間で時間方向に相対強度が積算される。この結果、図6のような2次元質量スペクトルが得られる。勿論、図6は物質Aの6価イオンのピーク近傍のみの質量スペクトルであって、6価を除く5~9価イオンによる強度ピークも、それぞれの位置(質量数)に現われる。

【0020】次に、2次元質量スペクトルに現われている複数の強度ピークを調べ、ピークセットを求める(ステップS3)。すなわち、2次元質量スペクトルに現われているすべての強度ピークの位置と価数との組合わせを順次計算し、一つの物質の多価イオンによって生じている可能性が最も高いと推定されるピークセットが抽出される。本実施例では、ピーク位置が、1341、1117.8、958.14、838.5、745.44である5本の強度ピークが、或る一つの物質によるピークセットである可能性が高いと判断される。

【0021】統いて、上記の如く求めたピークセットの各ピーク位置の信頼性を調べるために、まず、各強度ピークが生じている質量数における相対強度の時間依存性が調べられる。すなわち、ピークセットを構成する各強度ピークが或る一つの物質により生じているものであるときには、その強度ピークの質量数における時間方向のクロマトグラムはいずれも同じような変動をすると考えられる。そこで、まず、3次元質量スペクトルから、各\*

$$X = \{ \sum_{i=5 \sim 9} [i \cdot P_i - i] \}$$

ここで、R<sub>i</sub>はi価のイオンによるピーク位置の信頼度

\* 強度ピークが生じている質量数における相対強度と時間との関係を示すクロマトグラムを切出す(ステップS4)。例えば、図3中に実線で示すクロマトグラムは、図5の3次元質量スペクトルから質量数1117.8における相対強度と時間との関係を切り出したものであり、破線で示すクロマトグラムは、質量数1341における相対強度と時間との関係を切り出したものである。

【0022】また、同じピークセット中の他の強度ピークの質量数における相対強度と時間との関係も、図3中の破線で示すクロマトグラムと類似の変動傾向を示す。すなわち、質量数1117.8における強度ピークは物質Aと物質Bの両方によるものであるため、そのクロマトグラムは、当然、物質Aによるクロマトグラムと物質Bによるクロマトグラムとが合成された形状を呈する。一方、他の強度ピークの質量数におけるクロマトグラムは、物質Bの影響がないため、物質Aのみによる比較的単調な形状を呈する。従って、このクロマトグラムの類似性又は相違性を判断することにより、各強度ピークが単独の物質のイオンによるものか否かを識別することができる(ステップS5)。

【0023】クロマトグラムの類似性の具体的な判断方法としては、例えば、各クロマトグラムを所定時間間隔毎に微分することにより変動量(各時間におけるクロマトグラムの傾き)を算出し、その結果を比較することにより類似性を求めることができる。また、その他の方法でも可能である。

【0024】そして、クロマトグラムの類似性の判断結果から各強度ピークの信頼性を判定し(ステップS6)、この信頼性を勘案して分子量を推定する(ステップS7)。クロマトグラムの類似性から各強度ピークの信頼性を判定する際には、種々の方法を取り得る。例えば、類似性を、類似しているか否かの二者択一で判断し、類似していないと判断された強度ピークは目的の物質でない他の物質の影響を受けた強度ピークであると判定し、分子量の推定の際に除外するようにする。上記の例では、6価のピーク位置のクロマトグラムのみ類似性がないと判断され、分子量は5、7、8、9価の4個のピーク位置から推定される。

【0025】また、類似性を多段階的に判断し、その類似性に応じて各強度ピークの信頼度を重み付けして、この信頼度を利用して分子量を推定するようにしても良い。例えば、上記の例では、6価のピーク位置のクロマトグラムのみ類似性が低いため信頼度を0.5とし、他のピーク位置の信頼度は1.0とする。一般には、(1)式により、分子量Xは、

$$X = i \cdot P_i - i \quad \cdots (2)$$

で算出できるが、この場合には物質Aの分子量は信頼度を勘案した次の(3)式により算出される。

$$R_i \} / \sum_{i=5 \sim 9} R_i \quad \cdots (3)$$

ここで、R<sub>i</sub> = 0~1とする。これによれば、分子量の推定

にピーク位置の信頼度が反映される。

【図26】また、分子量を推定するのみでなく、ピークセットから物質を同定する場合にも上記説明のようにピーク位置の信頼性の低いものを除外してすることにより、誤ったピークセットが構成されることがなくなるため、物質の同定の確度が増すことになる。

【図面の簡単な説明】

【図1】 液体クロマトグラフ質量分析装置のブロック構成図。

【図2】 本発明に係る液体クロマトグラフ質量分析装置における3次元多価イオン解析の処理手順を示すフローチャート。

【図3】 ピーク位置の信頼性の判断方法を説明するための図。

【図4】 液体クロマトグラフで物質が分離されないと\*

\*きのクロマトグラムを例示する図。

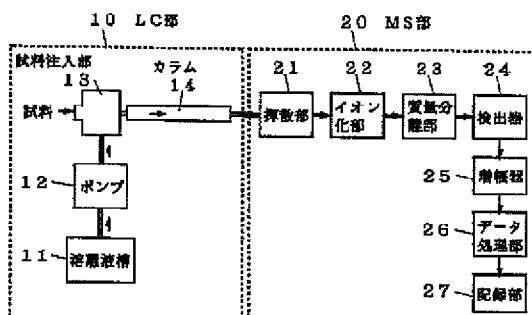
【図5】 液体クロマトグラフで物質が分離されないときの3次元質量スペクトルを例示する図。

【図6】 図5の3次元質量スペクトルを2次元化処理したときの2次元質量スペクトルを示す図。

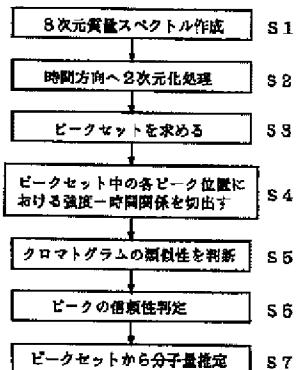
【符号の説明】

- 10 … LC部
- 13 … 試料注入部
- 14 … カラム
- 20 … MS部
- 21 … 挥散部
- 22 … イオン化部
- 23 … 質量分離部
- 24 … 検出器
- 25 … 増幅器
- 26 … データ処理部
- 27 … 記録部

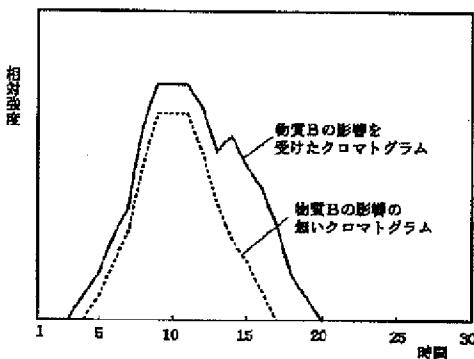
【図1】



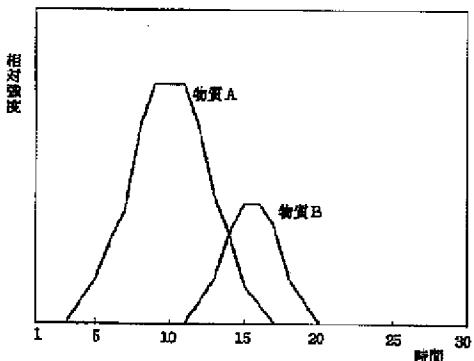
【図2】



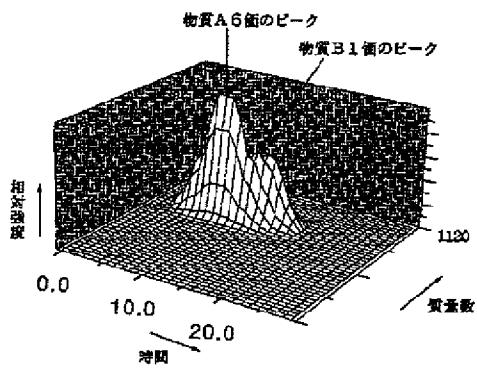
【図3】



【図4】



【図5】



【図6】

